

## PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 11-183438

(43)Date of publication of application : 09.07.1999

(51)Int.Cl.

G01N 27/48  
G01N 27/416

(21)Application number : 09-350800

(71)Applicant : NEC CORP

(22)Date of filing : 19.12.1997

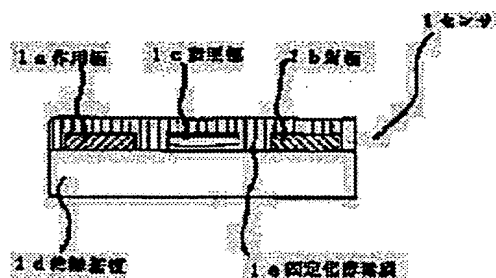
(72)Inventor : MIYAZAKI MASAKO  
SAITO ATSUSHI  
SAITO SOICHI

## (54) APPLICATION METHOD FOR POTENTIAL OF BIOSENSOR

## (57)Abstract:

**PROBLEM TO BE SOLVED:** To obtain an application method in which the electrode structure of a biosensor is protected from a measuring potential to be applied.

**SOLUTION:** A biosensor 1 is immersed in a buffer solution which does not contain glucose. A measuring potential of 0.2 to 0.8 V, preferably 0.7 V, is applied across a working electrode 1a and a reference electrode 1c while an application speed is being increased gradually. A transient current which is generated at the working electrode 1a at this time is lowered, and it reaches a nearly constant stable current value. After that, the biosensor 1 is taken out from the buffer solution, and it is immersed in a sample solution to be measured. Then, gluconic acid and hydrogen peroxide are generated from glucose in the sample solution due to the function of glucose oxidase in an immobilized enzyme membrane 1e. The generated hydrogen peroxide is oxidized on the surface of the working electrode 1a to which the measuring potential is applied, and a current value which corresponds to the amount of the hydrogen peroxide flows. When the current value is detected, the concentration of the glucose in the sample solution can be obtained.



## LEGAL STATUS

[Date of request for examination] 19.12.1997

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number] 3063716

[Date of registration] 12.05.2000

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]



(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平11-183438

(43) 公開日 平成11年(1999) 7月9日

(51) Int.Cl.<sup>6</sup>G 0 1 N 27/48  
27/416

識別記号

3 1 1

F I

G 0 1 N 27/48  
27/46

3 1 1

3 3 8

審査請求 有 請求項の数 6 O L (全 4 頁)

(21) 出願番号 特願平9-350800

(22) 出願日 平成9年(1997)12月19日

(71) 出願人 000004237

日本電気株式会社  
東京都港区芝五丁目7番1号

(72) 発明者 宮▲崎▼ 真抄子

東京都港区芝五丁目7番1号 日本電気株  
式会社内

(72) 発明者 ▲斉▼藤 敦

東京都港区芝五丁目7番1号 日本電気株  
式会社内

(72) 発明者 ▲斉▼藤 総一

東京都港区芝五丁目7番1号 日本電気株  
式会社内

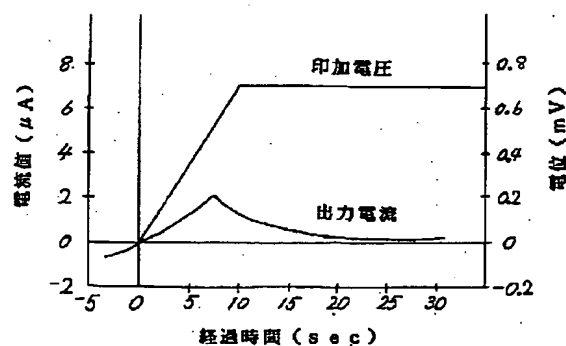
(74) 代理人 弁理士 菅野 中

(54) 【発明の名称】 バイオセンサの電位印加方法

(57) 【要約】

【課題】 バイオセンサの電極構造を印加する測定電圧  
によるストレスから保護する。

【解決手段】 グルコースを含まない緩衝液中にバイオ  
センサ1を浸漬し、作用極1aと参照極1cの間に、印  
加速度を漸増させて0.2-0.8V、好ましくは0.  
7Vの測定電位を印加する。このとき作用極1aに発生  
する過渡電流が低下し、ほぼ一定の安定した電流値に達  
した後、バイオセンサ1を緩衝液中より取出し、測定を  
行う試料溶液中に浸漬する。すると、試料溶液中のグル  
コースから固定化酵素膜1e中のグルコースオキシダー  
ゼの働きによってグルコン酸と過酸化水素が発生する。  
発生した過酸化水素は、測定電位が印加されている作用  
極1aの表面において酸化され、過酸化水素量に対応す  
る電流値が流れる。この電流値を検出することにより、  
試料溶液中のグルコース濃度を得ることができる。



## 【特許請求の範囲】

【請求項1】 アンペロメトリック測定で液体試料の分析を行うバイオセンサの作用極と参照極との間に印加する測定電位を、前記参照極の電位を基準として漸増させて印加することを特徴とするバイオセンサの電位印加方法。

【請求項2】 前記測定電位を最初に印加する際に作用極と対極との間に発生する、過大な過渡電流を低減するため、参照極に対して作用極に100mV/sec、以下の速度でスロープ状に測定電位を印加することを特徴とする請求項1に記載のバイオセンサの電位印加方法。

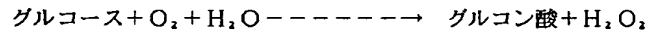
【請求項3】 前記過渡電流の大きさが一定値を越えないように、前記測定電位印加速度を制御しながら、参照極に対して作用極に測定電位を印加することを特徴とする請求項2に記載のバイオセンサの電位印加方法。

【請求項4】 前記作用極には、最終的に0.2~0.8Vの測定電位を印加するものであることを特徴とする請求項1に記載のバイオセンサの電位印加方法。

【請求項5】 前記作用極には、最終的に望ましくは0.7Vの測定電位を印加するものであることを特徴とする請求項1又は3に記載のバイオセンサの電位印加方法。

\*

## グルコースオキシダーゼ



の反応に伴う $\text{O}_2$ の減少あるいは $\text{H}_2\text{O}_2$ の生成を電極で検知したり、グルコン酸の生成に伴う $\text{H}^+$ の生成をイオン選択性電界効果形トランジスタで検知したり、或いは酵素反応熱をサーミスタで検知するなどの方法を介してグルコースの定量が可能なセンサが得られる（新素材便覧、通算資料調査会）。

【0004】 上述した反応式のように酸素が存在する場合に、 $\text{O}_2$ の減少あるいは $\text{H}_2\text{O}_2$ の生成を電極で検知するバイオセンサは、酸素消費量を酸素電極によって測定するか、若しくは過酸化水素の生成量を過酸化水素電極によって測定している。

【0005】 また酸素が存在しない場合に用いるバイオセンサとしては、酸素を電子受容体として用いず、有機化合物や金属錯体を電子受容体として用いる構成のものがあり、このタイプのセンサは、酵素反応の結果生じた電子受容体の還元体を、電極で酸化することにより、その酸化電流から濃度を測定している（特開平9-243599号公報参照）。

【0006】

【発明が解決しようとする課題】 しかしながら、前者のバイオセンサは、対をなす作用極及び対極と、参照極とを備えており、図4に示すように参照極に対する作用極に0.7Vの電位を直接印加していたため、6.0 $\mu\text{A}$ 以上の過大な過渡電流が発生し、酵素を固定化した有機薄膜の破壊や剥がれなどによる劣化が生じ、バイオセンサの使用壽命を低下させるという問題がある。

\*【請求項6】 固定化酵素を含まない緩衝液にバイオセンサを一旦浸漬させて、バイオセンサの作用極に流れる過渡電流を低減して安定させ、その後、バイオセンサを測定試料中に浸漬させることを特徴とする請求項1に記載のバイオセンサの電位印加方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】 本発明は、アンペロメトリック測定で液体試料の分析を行うバイオセンサへの電位印加方法に関する。

【0002】

【従来の技術】 バイオセンサは、生体のもつ分子識別機能を利用することによる化学センサの一種である。バイオセンサは、酵素、抗体等及び微生物などの固定化物質と、電気化学デバイス又は電子デバイスとの組合せにより構成されている。利用した生体成分又は生体がある分子を識別すると、特定の物理的あるいは化学的な変化が伴って引き起こされ、その変化を電気化学デバイス又は電子デバイスで検知するようになっている。

【0003】 例えば酵素としてグルコースオキシダーゼを利用すると、

【0007】 また特開平9-243599号公報に開示されたバイオセンサも同様に作用極に対極を基準として200mVの電位を直接印加しているため、バイオセンサの使用壽命を低下させる可能性がある。

【0008】 また特開平9-243599号公報に開示されたバイオセンサは、60mV/Sで正電位側に掃引しているが、その掃引は、試料溶液の電位とは無関係に200mVの電位を印加した直後から行なうものであるため、掃引前の電圧印加によりバイオセンサの電極構造にダメージを与えてしまい、60mV/Sでの掃引による測定を正常に行うことができないという問題があった。

【0009】 本発明の目的は、過渡電流を低減することにより、有機薄膜の破壊を大巾に低減し、長寿命化させたバイオセンサの電位印加方法を提供することにある。

【0010】

【課題を解決するための手段】 前記目的を達成するため、本発明に係るバイオセンサの電位印加方法は、アンペロメトリック測定で液体試料の分析を行うバイオセンサの作用極と参照極との間に印加する測定電位を、前記参照極の電位を基準として漸増させて印加するものである。

【0011】 また、前記測定電位を最初に印加する際に作用極と対極との間に発生する、過大な過渡電流を低減するため、参照極に対して作用極に100mV/sec、以下の速度でスロープ状に測定電位を印加するもの

である。

【0012】また、前記過渡電流の大きさが一定値を越えないように、前記測定電位印加速度を制御しながら、参照極に対して作用極に測定電位を印加するものである。

【0013】また、前記作用極には、最終的に0.2～0.8Vの測定電位を印加するものである。

【0014】また、前記作用極には、最終的に望ましくは0.7Vの測定電位を印加するものである。

【0015】また、固定化酵素を含まない緩衝液にバイオセンサを一旦浸漬させて、バイオセンサの作用極に流れる過渡電流を低減して安定させ、その後、バイオセンサを測定試料中に浸漬させるものである。

【0016】本発明によれば、試料溶液の電位を基準として、その電位から電圧を漸増させて、作用極と参照極との間に最適な測定電位を印加し、急激な電圧印加による電極の破壊を回避する。

【0017】

【発明の実施の形態】以下、本発明の実施の形態を図により説明する。図1は、本発明の一実施形態に係るバイオセンサを示す断面図である。

【0018】図1に示す本発明の一実施形態に係るバイオセンサ1は、絶縁基板1d上に作用極1a、対極1b、参照極1cからなる電極構造をもつ過酸化水素検出型のアンペロメトリックバイオセンサとして構成されるものである。

【0019】絶縁基板1dは、絶縁性の高い石英、ガラス、またはセラミックなどを主成分とする素材からなり、その一面が平坦面として形成されている。

【0020】作用極1a、対極1b、参照極1cは、絶縁基板1dの一面側の平坦面上に、参照極1cを中心に据えて両側に作用極1aと対極1bとを配設している。

【0021】ここに、作用極1a及び対極1bは、測定試料と反応せず、耐薬品性および過酸化水素検出特性に優れた素材、例えば白金等から構成されている。また参照極1cは、電位の再現性が高く取扱いが容易な素材、例えば銀/塩化銀等から構成されている。

【0022】さらに、絶縁基板1d上に形成された作用極1a、対極1b、参照極1cは、酸化酵素を固定した固定化酵素膜11によりスピンコート、ディップコート、スプレーコートなどの方法により密着して被覆されている。また、酸化酵素としては、酵素反応の生成物として過酸化水素を生成するグルコース酸化酵素、乳酸酸化酵素、尿酸酸化酵素、エタノール酸化酵素等が用いられる。

【0023】図3は、図1に示すバイオセンサに測定電位を印加する装置を示す構成図である。

【0024】7はバイオセンサ1を浸漬する溶液が充填された容器、2はバイオセンサ1の各電極1a、1b、1cを電気的に制御するポテンシオスタットである。ま

た3はデジタル信号をアナログ信号に変換するD/A変換器、4はアナログ信号をデジタル信号に変換するA/D変換器、5はバイオセンサ1への印加電圧の制御を行うマイクロコンピュータ、6は測定データを表示する表示装置である。

【0025】次に、図1に示すバイオセンサを用いて試料溶液中のグルコース濃度を測定する場合について説明する。

【0026】まず、グルコースを含まない緩衝液を容器7内に充填し、容器7の緩衝液中にバイオセンサ1の作用極1a、対極1b、参照極1cを浸漬させる。

【0027】ここで、従来例では作用極1aと対極1bとの間に測定電位を印加していたが、本発明の一実施形態1では、測定電位を最初に印加する際に発生する過大な過渡電流を低減するため、対極1bではなく、作用極1aと参照極1cとの間に、容器7に充填した前記緩衝液の電位を基準として0mVから電圧を漸増させて印加し、作用極1に参照極1cに対して100mV/S以下の印加速度でマイクロコンピュータ5からの指令に基づいてポテンシオスタット2により電極1a、1b、1cの電圧を制御する。

【0028】ここに、測定電位を漸増させて印加する際に、作用極1に流れる過渡電流値が2.0～3.0μA以下の決められた値を越えないように電位印加速度の制御を行う。

【0029】参照極1cに対して0.2～0.8V、好ましくは0.7Vの電位をもつ測定電位を印加する。そして、作用極1aでの過渡電流が低下し、ほぼ一定の安定した定常電流に達した後、バイオセンサを容器7内の緩衝液から取出す。

【0030】そして、このバイオセンサを、容器7内に充填した測定を行う試料溶液中に浸漬する。

【0031】すると、バイオセンサを浸漬した容器7内の試料溶液中のグルコースから固定化酵素膜1eのグルコースオキシダーゼの働きによってグルコン酸と過酸化水素が発生する。

【0032】その発生した過酸化水素は、測定電位が印加されている作用極1aの表面において酸化され、その過酸化水素量に対応する電流値が流れる。この電流値を検出することにより、試料溶液中のグルコース濃度を得る。その測定結果は、表示装置6に表示される。

【0033】

【発明の効果】以上説明したように本発明によれば、バイオセンサが浸漬される試料溶液の電位を基準として、作用極と参照極との間に測定電位を漸増しながら印加するため、バイオセンサの電極構造に電圧印加によるストレスが加わることがなく、バイオセンサの破壊を防止することができ、長寿命化を実現することができる。

【0034】また作用極に流れる過渡電流の最大値が電極構造へのダメージが小さい2.0～3.0μA以下と

なるように、 $100\text{ mV/sec}$ 以下の印加速度で測定電位に達するように制御することにより、バイオセンサの破壊をより有効に防止することができる。

【0035】また、緩衝液にバイオセンサを一旦浸漬させて、バイオセンサの作用極に流れる過渡電流を低減して安定させ、その後、バイオセンサを測定試料中に浸漬させて試料溶液中の濃度を測定するため、試料溶液中の濃度測定を正確に行うことができる。

【図面の簡単な説明】

【図1】本発明の一実施形態に係るバイオセンサを示す断面図である。

【図2】図1に示す本発明の一実施形態に係るバイオセ\*

\*ンサへの電圧印加方法を示す図である。

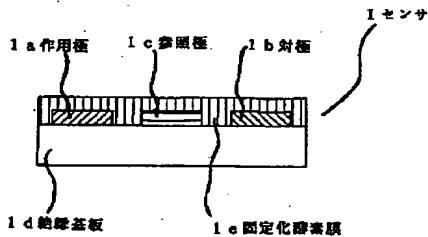
【図3】図1に示す本発明の一実施形態に係るバイオセンサへの電圧印加を行う装置を示す構成図である。

【図4】従来例におけるバイオセンサへの電圧印加の方法を示す図である。

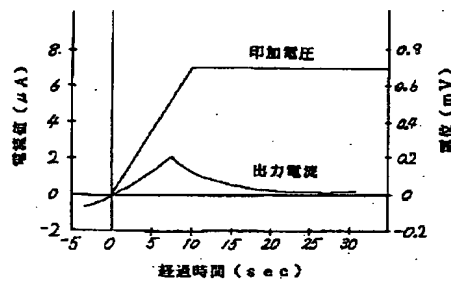
【符号の説明】

- 1 バイオセンサ
- 1 a 作用極
- 1 b 対極
- 1 c 参照極
- 1 d 絶縁基板
- 1 e 固定化酵素膜

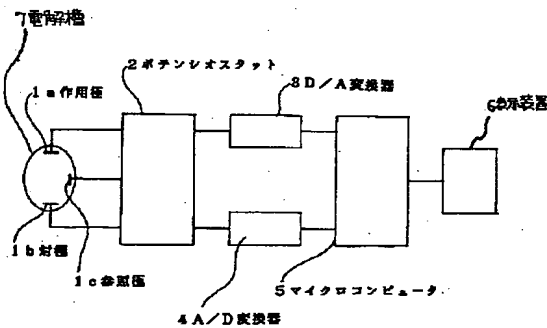
【図1】



【図2】



【図3】



【図4】

